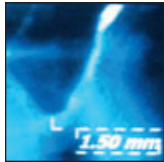


Regulation der Kopplung von Osteogenese und Angiogenese bei intraoralen regenerativen Verfahren durch eine Hypoxie: Ein Literaturreview



Anastasios A. Mamalis, PhD¹
David L. Cochran, PhD²

Um eine ausreichende Knochenmenge für eine Implantation zu schaffen, werden routinemäßig intraorale Knochentransplantationen durchgeführt. Die Konsolidierung des Transplantats ist ein komplexer biologischer Vorgang, der davon abhängt, dass Blutgefäße in den augmentierten Bereich einsprossen. Schlüsselfaktoren für die Stimulation der Blutgefäßbildung sind Hypoxia-inducible Factors (HIFs) und Hypoxia-mimicking Agents (HMAs). Bei einer Hypoxie werden die HIFs nicht degradiert und lösen eine Angiogenese aus. Bei einer Normoxie verhindern HMAs den Abbau von HIFs. Besprochen werden die für die Kopplung von Angiogenese und Osteogenese verantwortlichen zellulären und molekularen Mechanismen sowie die therapeutische Beeinflussung von HIFs und HMAs bei der intraoralen Knochenreparatur und -regeneration. Mithilfe solcher Erkenntnisse entstehen vielversprechende Ansätze für die Entwicklung neuer Therapien zur intraoralen Knochenreparatur und -regeneration. (Int J Par Rest Zahnheilkd 2013;33:481–486.)

¹ Forschungsstipendiat, Department of Periodontics, University of Texas Health Science Center at San Antonio, San Antonio, Texas, USA.

² Professor und Leiter, Department of Periodontics, University of Texas Health Science Center at San Antonio, San Antonio, Texas, USA.

Korrespondenz an: Dr. Anastasios A. Mamalis, Department of Periodontics, University of Texas Health Science Center at San Antonio, 7703 Floyd Curl Drive, San Antonio, TX 78229-3900, USA. Fax: +1 210 567 3643. E-Mail:mamalis@uthscsa.edu

Beide Autoren waren zu gleichen Teilen an dieser Arbeit beteiligt.

©2013 by Quintessence Publishing Co Inc.

Die Knochen des kraniofazialen Komplexes im Unterkiefer entstammen direkt dem mesenchymalen Bindegewebe (intramembranös)¹. Hierbei handelt es sich um vitale und dynamische Organe. Sie bestehen aus einer äußeren Kortikalis, die ihnen Festigkeit verleiht, und einer inneren Spongiosa, die als Reservoir für den aktiven Knochenstoffwechsel dient. Alle Verfahren zur intraoralen Knochenaugmentation versuchen, eine intramembranöse Knochenneubildung zu induzieren².

Zu den intraoralen Knochenaugmentationsverfahren gehören die Ridge Preservation (v. a. Transplantation von Extraktionsalveolen), die vertikale und horizontale Alveolar-kammaugmentation und der Sinuslift. Bei den dazu alleine oder in Kombination eingesetzten Verfahren werden Wachstums- und Differenzierungsfaktoren, Knochengranulat und Knochenblöcke sowie resorbierbare oder nicht resorbierbare Barrieremembranen (z. B. bei der gesteuerten Knochenregeneration) verwendet.

Die Knochen des kraniofazialen Komplexes sind stark vaskularisiert und besitzen ein vergleichsweise hypoxisches Knochenmark³. Die Knochengefäße sind entscheidend daran beteiligt, dass die Knochenhomöostase gut ausbalanciert ist. Daher liefern die Gefäße neben Sauerstoff und Nährstoffen auch Vorläuferzellen,

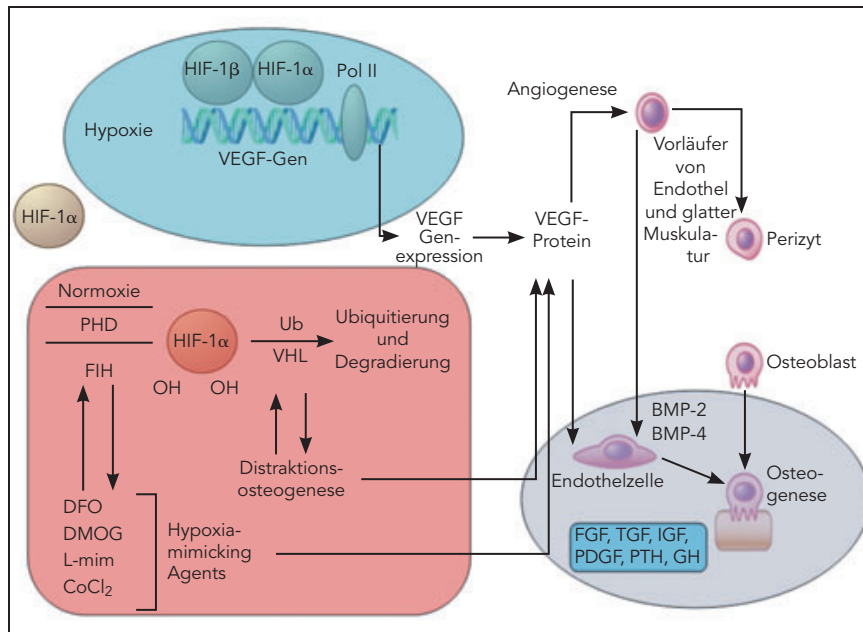


Abb. 1 Übersicht der Knochenentwicklung und -reparatur mithilfe der Kopplung von Angiogenese und Osteogenese. Hypoxia-inducible Factors (HIFs) sind überwiegend Transkriptionsfaktoren, deren Expression durch hypoxische Gradienten getriggert wird und die direkt oder indirekt über die Produktion anderer angiogener Moleküle auf die Angiogenese wirken. VEGF ist das wichtigste Hypoxia-responsive Gene, da es die angiogen-osteogene Kaskade initiiert, die zur Knochenentwicklung und -regeneration führt. Bei Normoxie werden die HIFs durch das VHL-Protein mit Polyubiquitin-Ketten (Ub-Ketten) modifiziert, sodass sie von Proteasen abgebaut werden können. Wenn hypoxische Gradienten vorliegen, wird die Hydroxylierung durch PHD-Proteine gehemmt, sodass die HIF-Konzentration steigt und die Zielgene der HIFs (wie VEGF) heraufreguliert werden.

die für den Knochenumbau und die -reparatur wichtig sind⁴.

Hypoxien (relative Abnahme der Sauerstoffkonzentration) sind in den kranio-mandibulären Knochen häufig. Im Knochenmark liegt die Sauerstoffkonzentration weit unter 1 % (Hypoxie), während sie im normalen Gewebe Erwachsener bei 2 bis 9 % liegt (Normoxie)⁵. In Studien wurde die Hypoxie während der embryonalen Entwicklung als wichtiger Reiz identifiziert. Wichtiger ist sie noch als Stimulans für eine De-novo-Angiogenese bei Knochenumbau und Defektkorrektur⁶.

Die Hypoxie reguliert durch einen Feedback-Mechanismus aus miteinander zusammenhängenden stabilisierenden Substanzen und induzierbaren Faktoren die Kopplung

von Angiogenese und Osteogenese. Es gibt nur wenige Studien über den genauen Ablauf dieser Regulation. Allerdings konnten genetische Modifikationen an In-vivo-Modellen die zentrale Rolle der Hypoxie und der mit ihr zusammenhängenden Komponenten bei der Kopplung von Angiogenese und Osteogenese im Rahmen der Reparatur des alveolären Knochens teilweise aufklären⁶.

Im vorliegenden Artikel wird die Bedeutung der Hypoxie sowie der Hypoxia-inducible Factors (HIFs) und der Hypoxia-mimicking Agents (HMAs) besprochen, die sie für die Manipulation der Kopplungsmechanismen bei einer Reparatur des alveolären Knochens aufweisen. Besonders berücksichtigt wird hierbei die intraorale Knochenaugmentation.

Kopplungsmechanismen von Angiogenese und Osteogenese

Störungen der Knochenreparatur und -regeneration wurden auf Störungen der Knochenvascularisation zurückgeführt⁷. In zahlreichen genetischen, biochemischen und pharmakologischen Studien wurde das Vorhandensein von Cross-talk-Mechanismen zwischen den Endothelzellen der Knochengefäße und den Vorläuferzellen von Knochengewebe belegt und geklärt⁸.

Cross-talk-Mechanismen werden überwiegend von Wachstumsfaktoren und Zytokinen vermittelt, die normalerweise während der fetalen Skelettentwicklung exprimiert werden (Abb. 1). Dabei handelt es sich um

Polypeptidproteine aus den Superfamilien von Fibroblast Growth Factor (FGF), Transforming Growth Factor (TGF), Bone Morphogenetic Protein (BMP), Insulin-like Growth Factor (IGF), Platelet-derived Growth Factor (PDGF) und Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). Abgesehen von lokal wirkenden Wachstumsfaktoren koppeln vermutlich auch systemische Wachstumsfaktoren für die Osteogenese und Angiogenese, allen voran Parathormon und Wachstumshormon (Abb. 1).

Auch die Auslöser der Osteogenese wirken sich vermutlich direkt oder indirekt über die Produktion anderer angiogener Moleküle, wie VEGF, auf die Angiogenese aus.

Hypoxia-inducible Factors

Hypoxia-inducible factors (HIFs) sind überwiegend Transkriptionsfaktoren, deren Gen- und Proteinexpression durch hypoxische Gradienten getriggert wird (Abb. 1). HIFs existieren als heterodimeres Protein mit zwei monomeren Formen: HIF-1 α und HIF-1 β . Diese Monomere bilden durch Interaktion mit anderen intrazellulären endogenen HIF-Formen Transkriptionsfaktorkomplexe in den Zellen. Diese gelangen in den Zellkern, wo sie an der genomischen Desoxyribonukleinsäure (DNS) als Transkriptionsfaktoren die Genexpression regulieren. Auf diese Weise binden HIFs in einer hypoxischen Umgebung an bestimmte DNS-Regionen, die Hypoxia Response Elements, die die Promotorregionen der Hypoxia-responsive Gene besetzen. Durch die Bindung werden die Hypoxia-responsive Gene, die an dem Glukosestoffwechsel, der Erythropoese, dem Eisentransport, der Kontrolle des Gefäßtonus und der Angiogenese beteiligt sind, signifikant heraufreguliert⁹.

Das wichtigste Hypoxia-responsive Gene scheint VEGF zu sein. HIFs

und VEGF, die von osteoblastischen Vorläuferzellen bzw. Endothelzellen sezerniert werden, sind entscheidend an der Steuerung der Koppung von Angiogenese und Osteogenese bei der Knochenneubildung und -reparatur beteiligt. Ihre Interaktion initiiert die angiogenetisch-osteogenetische Kaskade, die zur Knochenentwicklung und -regeneration führt (Abb. 1).

Das Ansprechen der HIFs auf hypoxische Bedingungen wird durch bestimmte Proteine vermittelt, die 2-Oxoglutarat-abhängige und Fe²⁺-abhängige Dioxygenase¹⁰. Diese Proteine nehmen Veränderungen der Sauerstoffspannung wahr und regulieren die Expression und Aktivität der HIF-1 α -Untereinheit. Außerdem reagieren HIFs durch eine sauerstoffabhängige Degradationsdomäne auf die Hypoxie, die Prolylhydroxylase-Domain-Proteine (PHD-Proteine) enthält. Bei einer Normoxie (Sauerstoffspiegel > 5 %) werden die HIFs durch PHD-Proteine hydroxyliert. Während dieser Hydroxylierung modifiziert das Tumorsuppressorprotein Von-Hippel-Lindau-Faktor (VHL-Faktor) die HIFs durch Polyubiquitinketten, sodass sie durch Proteasen abgebaut werden können (Abb. 1). Bei hypoxischen Gradienten wird die Hydroxylierung durch PHD-Proteine gehemmt, sodass die HIF-Konzentration steigt und die Zielgene der HIFs, wie VEGF, heraufreguliert werden (Abb. 1)¹¹.

Die HIFs werden durch einen weiteren sauerstoffabhängigen Mechanismus heraufreguliert, eine Asparaginyhydroxylase, die als Factor-inhibiting HIF (FIH) bezeichnet wird (Abb. 1). FIH verhindert die Interaktion der HIFs mit transkriptionalen Koaktivatoren, wie p300 und Core Binding Protein (CBP) durch die Hydroxylierung eines Asparaginrests (N803) in der carboxyterminalen Transkriptionsaktivierungsdomäne von HIF-1¹². Dadurch wirken die HIF-Moleküle

nicht mehr als Transkriptionsfaktoren und stimulieren auch nicht mehr die Genexpression.

In mehreren Studien wurde die mögliche Bedeutung des HIF-Signalwegs bei der Reaktion von Knochengewebe auf Verletzungen und bei der Regeneration untersucht. Eine In-vivo-Studie analysierte die Rolle von HIF-1 α bei der Knochenregeneration¹³. Dazu wurde bei mutierten Mäusen eine Distraktionsosteogenese mit anschließender Aktivierung oder Inaktivierung von HIF-1 α im Knochenmark durch VHL-Hydroxylierung vorgenommen. Die Daten zeigen, dass der HIF-Signalweg während der Distraktionsosteogenese aktiviert war. Außerdem war die Vaskularisierung und Knochenproduktion als Reaktion auf die Distraktionsosteogenese bei HIF-1 α -Aktivierung im Knochenmark verstärkt, während Angiogenese und Knochenheilung bei Mäusen ohne HIF-1 α beeinträchtigt waren. Somit kann der HIF-1 α -Signalweg als kritischer Mediator der Neoangiogenese genetisch und pharmakologisch so beeinflusst werden, dass die Knochenheilung verbessert wird¹⁴.

Störungen der Knochenheilung wurden mit der unzuverlässigen Expression von HIF-1 und VEGF in Verbindung gebracht¹⁵. Im Diabetesmodell zeigte sich, dass chronische Knochenheilungsstörungen mit einer niedrigen Expression von angiogenen Molekülen einhergingen¹⁵, während die dauerhafte Expression von HIF-1 α bei Diabetes die Angiogenese und Knochenreparatur förderte¹⁵.

Auch in humanen Gingivaproben wurden bei einer chronischen Parodontitis hypoxische Bedingungen nachgewiesen. Mithilfe der Molekularsonde Fluorin-18-Fluormisonidazol wurde ein deutlicher hypoxischer Gradient belegt¹⁶. Bei der Parodontitis entsteht die Hypoxie, da aufgrund einer Endothelschädigung und eines Ödems die Sauerstoffversorgung reduziert wird. Weiter verstärkt wird die



Hypoxie durch das Einwandern von Entzündungszellen, die den Sauerstoffverbrauch erhöhen¹⁷. Studien haben gezeigt, dass die vermehrte Expression von HIF-1 α im entzündeten parodontalen Gewebe die Fibroblastenproliferation stimuliert¹⁸. Außerdem sind HIFs an der angeborenen Immunität beteiligt, da Neutrophile und Makrophagen bei einer Normoxie HIF-1 α exprimieren¹⁹. Durch das Knock-out von HIF-1 α wird der Adenosintriphosphat-Pool dieser Zellen drastisch reduziert, sodass sie funktionell inaktiv werden.

Die Hypoxie wirkt sich direkt auf die Zellen des menschlichen Parodontalligaments (PDL) aus. Eine Studie über die Auswirkungen der Hypoxie auf die Parodontalgewebe im Rahmen der alveolären Knochenregeneration zeigte, dass bei einer Sauerstoffsättigung knochenresorbierende Faktoren produziert werden²⁰.

In einer hypoxischen Umgebung beeinflusst VEGF, das von den PDL-Zellen über einen HIF-vermittelten Signalweg produziert wird, den Knochenmetabolismus durch die Stimulation von Osteoklasten und Osteoblasten. VEGF fördert als Zytokin die Differenzierung und chemotaktische Migration von Osteoblasten²¹ und durch seine Wirkungen auf Osteoblasten und Osteoklastenvorläufer den Umbau des alveolären Knochens. Somit steuert die Hypoxie den Metabolismus des alveolären Knochens.

Neben VEGF stimuliert auch die HIF-Akkumulation bei hypoxischen Bedingungen die PDL-Zellen zur Expression mehrerer Zytokine. PDL-Zellen und andere eukaryotische Zellen, wie die Fibroblasten von Gingiva und Synovia, besitzen einen zellulären Sauerstoffsensoren, der sich in der Zellmembran²² oder den Mitochondrien²³ befindet. Diese Sauerstoffsensoren registrieren Änderungen des Sauerstoffpartialdrucks, die HIF-1 ak-

tivieren und die Produktion bestimmter Zytokine fördern, wie IL-1 β , IL-6 und TNF- α ²⁴. Einige dieser Zytokine fördern die HIF-Produktion, wie IL-1 β über die Stimulation humaner Fibroblasten²⁴. Außerdem können auch proinflammatorische Zytokine die HIF-1 α -Expression in humanen Gingivafibroblasten fördern²⁴. Insbesondere das Zytokin TNF- α kann HIF-1 α stabilisieren²⁵. Dieses wiederum kann Fibroblasten dazu veranlassen, zur Gewebedestruktion extrazelluläre Matrixmetalloproteinasen freizusetzen²⁶.

Da durch die hypoxischen Bedingungen im Rahmen einer Parodontitis die Expression von HIF-1 α zunimmt, dürften die HIFs während der parodontalen Entzündung und Reparatur am gesamten Prozess des alveolären Knochenstoffwechsels regulierend beteiligt sein.

Pharmakologische Modifikation der HIF-Aktivität durch Hypoxia-mimicking Agents

Die posttranslationale HIF-Expression und -Aktivität lässt sich durch zwei Arten von Hydroxylasen steuern: PHD-haltige Proteine und Asparaginyhydroxylase oder FIH²⁷. Bislang gibt es drei bekannte HIF-PHDs und -FIHs, die zur Familie der 2-Oxoglutaratdioxxygenasen gehören²¹. Daraus folgt, dass die HIF-Aktionen einer strikten und komplizierten Regulation unterliegen.

Vor Kurzem wurde während der Reparatur von Knochengewebe durch die pharmakologische Hemmung von HIF-Hydroxylasen ein Anstieg der HIF-Konzentration erzielt. Neue therapeutische Optionen umfassen auch die HMAs. Die HMA-Funktion basiert überwiegend auf der Regulation von PHD durch bestimmte Kofaktoren. Zu diesen gehören Chelatoren, wie Desferroxamin

(DFO), und Oxoglutaratanaloga, wie Dimethyloxaloylglycin (DMOG), die potente Inhibitoren der PHDs sind (Abb. 1). Insbesondere DMOG ist ein unspezifischer PHD-Inhibitor, der die Kollagensynthese hemmt. In experimentellen Modellen stimulierten hohe DMOG-Konzentrationen die Vaskularisierung und Änderungen von VEGF und VEGF-Rezeptor-messenger-Ribonukleinsäure²⁸.

In Tierstudien wurden HMA-Moleküle bei operativen Standardverfahren zur Distraktionsosteogenese eingesetzt. Moleküle mit hohem HIF-Aktivierungspotenzial förderten die Knochenregeneration²⁹. Die wichtigsten dabei untersuchten HMAs waren DFO und L-Mimose, die jeweils die Angiogenese und die Knochenneubildung verstärken. DFO bildet Chelate mit Eisen, das für die PHD-Enzymaktivität wichtig ist, während L-Mimose ein kompetitiver Inhibitor eines PHD-Kofaktors (2-Oxoglutarat) ist.

Somit kann die pharmakologische Stimulation der HIF-Aktivität eine robuste angiogenetische Reaktion mit anschließender osteogenetischer Reaktion auslösen. Die direkte Applikation von HMAs in die regenerierenden Bereiche stimuliert vorhersagbar die HIF-Aktivität im Knochen und den endothelialen Vorläuferzellen.

Weitere wissenschaftliche Ergebnisse über die HMAs zeigten, dass die lokale Applikation von DFO eine robustere Wirkung auf die Knochenneubildung hat als genetisch modifizierte Modelle²⁹. Abgesehen von DFO verstärken auch L-Mimose, DMOG und Kobaltchloride die HIF-1-Genexpression und sorgen für eine gleichbleibende Aktivierung von Hypoxia-responsive Genes. Dadurch wird eine proangiogene Umgebung geschaffen, die relativ unabhängig von der lokalen Sauerstoffspannung ist.

Die Effizienz und die fehlende Toxizität von DFO sind vielversprechend,

zumal es die Prolylhydroxylierung hemmen kann und selektiv PHDs angreift. Somit ist die pharmakologische Modifikation der HIF-Aktivität durch HMAs ein vielversprechender Ansatz bei intraoralen regenerativen Verfahren.

Schlussfolgerungen

Die Knochentransplantation ist ein integraler Bestandteil der regenerativen Verfahren der modernen Parodontologie und dentalen Implantologie. Besonders kritisch bei der Konsolidierung des Knochentransplantats ist die Bildung neuer Blutgefäße, die Neoangiogenese, ohne die das Knochentransplantat während der Heilung nur unzureichend in den Knochen integriert wird.

Die lokale Applikation von proangiogenen Faktoren in den transplantierten Bereich zur Stimulation der Neoangiogenese hat einen nachhaltigen Effekt auf das Heilungsergebnis. Das Anheben der HIF-Spiegel durch die Gabe von HMAs erzeugt nachweislich hypoxische Umgebungsbedingungen, die jede Form der Regeneration fördern.

Abgesehen von der lokalen Applikation von HMAs können auch das Gen-silencing von PHDs und FIH, die forcierte Expression von HIF-1 α oder HIF-2 β durch Zellen oder In-vitro-Systeme sowie stabile Mutanten dieser Proteine, die nicht mit PHD und FIH interagieren, in die regenerativen Strategien eingebunden werden. Derzeit laufen Studien zur Klärung der Mechanismen, über die das hypoxische Mikromilieu die Kopplung von Angiogenese und Osteogenese bei der Knochenregeneration steuert. Hypoxia-regulating Agents sind ein neuer Therapieansatz zur Erleichterung von intraoralen regenerativen Verfahren.

Interessenerklärung

Die Autoren geben bezogen auf diese Studie keine Interessenkonflikte an.

Literatur

- Brighton C, Friedlaender G, Lane J. Bone Formation and Repair. Rosemont, IL: American Academy of Orthopedic Surgeons, 1994:542.
- Serletti J, Manson P, Leipziger L. Trauma surgery. In: Reddi AH, Habal M (eds). Bone Grafts and Bone Substitutes. Philadelphia: WB Saunders, 1992:419.
- Shibuya M. Differential roles of vascular endothelial growth factor receptor-1 and receptor-2 in angiogenesis. *J Biochem Mol Biol* 2006;39:469–478.
- Sacchetti B, Funari A, Michienzi S, et al. Self-renewing osteoprogenitors in bone marrow sinusoids can organize a hematopoietic microenvironment. *Cell* 2007; 131:324–326.
- Simon MC, Keith B. The role of oxygen availability in embryonic development and stem cell function. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008;9:285–296.
- Provot S, Schipani E. Fetal growth plate: A developmental model of cellular adaptation to hypoxia. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1117:26–39.
- Burkhardt R, Kettner G, Böhm W, et al. Changes in trabecular bone, hematopoiesis and bone marrow vessels in aplastic anemia, primary osteoporosis, and old age: A comparative histomorphometric study. *Bone* 1987;8:157–164.
- Tatsuyama K, Maezawa Y, Baba H, Imamura Y, Fukuda M. Expression of various growth factors for cell proliferation and cytodifferentiation during fracture repair of bone. *Eur J Histochem* 2000;44:269–278.
- Gottrup F. Oxygen in wound healing and infection. *World J Surg* 2004;28:312–315.
- Lando D, Peet DJ, Gorman JJ, Whelan DA, Whitelaw ML, Bruick RK. FIH-1 is an asparaginyl hydroxylase enzyme that regulates the transcriptional activity of hypoxia-inducible factor. *Genes Dev* 2002; 16:1466–1471.
- Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2003;3:721–732.
- Olsson AK, Dimberg A, Kreuger J, Claesson-Welsh L. VEGF receptor signaling—In control of vascular function. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006;7:359–371.
- Komatsu DE, Hadjiargyrou M. Activation of the transcription factor HIF-1 and its target genes, VEGF, HO-1, iNOS, during fracture repair. *Bone* 2004;34:680–688.
- Liu L, Marti GP, Wei X, et al. Age-dependent impairment of HIF-1 α expression in diabetic mice: Correction with electroporation-facilitated gene therapy increases wound healing, angiogenesis, and circulating angiogenic cells. *J Cell Physiol* 2008;217:319–327.
- Mace KA, Yu DH, Paydar KZ, Boudreau N, Young DM. Sustained expression of Hif-1 α in the diabetic environment promotes angiogenesis and cutaneous wound repair. *Wound Repair Regen* 2007;15:636–645.
- Liu RS, Chu LS, Yen SH, et al. Detection of anaerobic odontogenic infections by fluorine-18 fluoromisonidazole. *Eur J Nucl Med* 1996;23:1384–1387.
- Karhausen J, Haase VH, Colgan SP. Inflammatory hypoxia: Role of hypoxia-inducible factor. *Cell Cycle* 2005;4: 256–258.
- Falanga V, Kirsner RS. Low oxygen stimulates proliferation of fibroblasts seeded as single cells. *J Cell Physiol* 1993;154: 506–510.
- Cramer T, Yamanishi Y, Clausen BE, et al. HIF-1 α is essential for myeloid cell-mediated inflammation. *Cell* 2003;112:645–657.
- Motohira H, Hayashi J, Tatsumi J, Tajima M, Sakagami H, Shin K. Hypoxia and reoxygenation augment bone-resorbing factor production from human periodontal ligament cells. *J Periodontol* 2007;78: 1803–1809.
- Acker H, Xue D. Mechanism of oxygen sensing in the carotid body in comparison with other oxygen sensing cells. *News Physiol Sci* 1995;10:211–216.
- Storz G, Imlay JA. Oxidative stress. *Curr Opin Microbiol* 1999;2:188–194.
- Hirsilä M, Koivunen P, Günzler V, Kivirikko KI, Myllyharju J. Characterization of the human prolyl 4-hydroxylases that modify the hypoxia-inducible factor. *J Biol Chem* 2003;278:30772–30780.

24. Thornton RD, Lane P, Borghaei RC, Pease EA, Caro J, Mochan E. Interleukin 1 induces hypoxia-inducible factor 1 in human gingival and synovial fibroblasts. *Biochem J* 2000;350:307–312.
25. Jung Y, Isaacs JS, Lee S, Trepel J, Liu ZG, Neckers L. Hypoxia-inducible factor induction by tumour necrosis factor in normoxic cells requires receptor-interacting protein-dependent nuclear factor kappa B activation. *Biochem J* 2003;370:1011–1017.
26. Ahn JK, Koh EM, Cha HS, et al. Role of hypoxia-inducible factor-1alpha in hypoxia-induced expressions of IL-8, MMP-1 and MMP-3 in rheumatoid fibroblast-like synoviocytes. *Rheumatology (Oxford)* 2008;47:834–839.
27. Wan C, Gilbert SR, Wang Y, et al. Activation of the hypoxia-inducible factor-1alpha pathway accelerates bone regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:686–691.
28. Willam C, Masson N, Tian YM, et al. Peptide blockade of HIFalpha degradation modulates cellular metabolism and angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:10423–10428.
29. Huang LE, Gu J, Schau M, Bunn HF. Regulation of hypoxia-inducible factor 1alpha is mediated by an O2-dependent degradation domain via the ubiquitin-proteasome pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:7987–7992.

